鱼类钠离子和氯离子转运载体的功能及调控机制

吉中力[1]　张春晓[2*]　麦康森[3]
（1. 集美大学农业部东海海水健康养殖重点实验室，厦门 361021；2. 厦门市集美大学饲料检测与安全评价重点实验室，厦门 361021；3. 中国海洋大学水产动物营养与饲料农业部重点实验室，青岛 266003）

摘　要：钠离子（Na^+）和氯离子（Cl^-）不仅参与鱼类体液的渗透压平衡调节，也参与细胞膜静息电位平衡，并且鱼类机体内部电解质的稳态也离不开Na^+和Cl^-的参与。位于硬骨鱼类鳃、胃肠道以及肾小管上皮细胞膜上的Na^+/钾离子（K^+）-ATP 酶、Na^+-K^+-$2Cl^-$协同转运蛋白、Na^+/氢离子（H^+）交换蛋白、囊性纤维化跨膜调控子等相关载体蛋白，是鱼类调控Na^+和Cl^-代谢的主要调节通道，这些调节通道蛋白的表达直接影响到机体内电解质的平衡。本文综述了与鱼类Na^+和Cl^-转运相关的主要载体蛋白的功能、影响其活力的因素及其调控机制等。

关键词：鱼类；Na^+；Cl^-；转运载体；渗透压调节
中图分类号：S917.4　　文献标识码：A　　文章编号：

多数情况下，硬骨鱼类体液与环境处于不等渗状态，因此需要有高效的离子渗透调节机制，以保持体内环境的稳态，从而保证机体所有生化生理过程的正常运行[1]。在淡水环境中，硬骨鱼类体液渗透压高于外界水环境，其需要抵抗体内矿物质的流失；在海水环境中，硬骨鱼类体液渗透压低于外界水环境，其需要抵御过多盐分所带来的细胞脱水状态。而广盐性硬骨鱼类能够更好地适应外界水环境盐度的变化，是由于它们有更强的调节体内渗透压的能力。众所周知，鳃和肾是鱼类渗透压调节的主要器官[2-5]。然而，近年来的研究发现，胃肠道作为外源性营养物质吸收的主要场所，其可通过摄取食物和水中电解质来维持体内离子的平衡[6-7]，从而参与鱼类渗透压的调节。

鱼类血浆中参与渗透压平衡调控的离子有钠离子（Na^+）、钾离子（K^+）、钙离子（Ca^{2+}）、镁离子（Mg^{2+}）、2 价铁离子（Fe^{2+}）、铜离子（Cu^{2+}）、锰离子（Mn^{2+}）、锌离子（Zn^{2+}）、氯离子（Cl^-）等[8]。而在这些离子中，Na^+和Cl^-浓度（Na^+：165~285 meq/L；Cl^-：129~270 meq/L）最高，因而其在鱼类体液渗透压调节中起主要作用[9-10]。鱼类可以通过鳃吸收Na^+和Cl^-，亦可通过鳃将血液中过多的Na^+和Cl^-分泌出去。Bucking 等[7]对虹鳟鱼（*Oncorhynchus mykiss*）的研究发现，饲料中Na^+和K^+（约 90%）主要是在胃部吸收；而对于无胃的模式鱼种——侧边底鳉（*Fundulus heteroclitus*），饲料中Na^+的主要吸收位点在肠道[11]。肠道离体试验证实，淡水环境下鳉鱼肠道对 Cl^-的吸收水平比海水环境下高[12-13]。另外，鱼体可以通过调节肾脏对Na^+和 Cl^-的重吸收作用，进而调控体内矿物质的平衡，在海水环境中，Na^+通过鳃向体外的运输率高于通过肾的运输率，而在淡水环境中，Na^+通过鳃外流的速率会受到抑制，同时肾脏会从肾小球滤液中重吸收Na^+来弥补自身的不足[14]。因此，鳃、胃肠道、肾脏在硬骨鱼类水盐平衡调节和渗透平衡调节过程中都发挥重要作用。

Na^+和Cl^-的平衡调节主要是通过鳃、胃肠道和肾小管上皮载体蛋白的活力调节来实现，如Na^+/K^+ATP 酶（Na^+/K^+-ATPase，NKA）、Na^+-K^+-$2Cl^-$协同转运蛋白（Na^+-K^+-$2Cl^-$ cotransporter，NKCC）、Na^+/H^+交换蛋白（Na^+/H^+ exchanger，NHE）和囊性纤维化跨膜调控子（cystic fibrosis transmembrane conductance regulator，CFTR）等，本文对参与Na^+和Cl^-代谢的主要载体蛋白的功能和调控机制进行综述，以期为鱼类渗透压调节的研究和实践提供理论支持。

1　NKA

NKA 是一种 P 型且包含 4 个 α 亚单位和 3 个 β 亚单位的$(\alpha\beta)_2$蛋白[15]。作为跨膜蛋白，且作为硬骨鱼类渗透调节组织中提供离子运输动力的一个主要的活跃泵[5]，其主要功能是将 3 个Na^+运出胞外，同时将 2

收稿日期：2015-08-24
基金项目：国家自然科学基金（31001115）；福建省高校优秀人才支持计划（JA11145）
作者简介：吉中力（1990-），男，福建厦门人，硕士研究生，从事水产动物营养与饲料研究。E-mail: cooljizhongli@sina.com
*通信作者：张春晓，副教授，硕士生导师，E-mail: cxzhang@jmu.edu.cn

个 K^+运进胞内（图 1 和图 2），该酶不仅可以维持细胞的内稳态，还可以为许多运输系统提供能量；大多数广盐性硬骨鱼类可以通过调节 NKA 的活力来适应外界不同的盐度变化[16-21]，且不论是在海水条件下还是在淡水条件下，位于广盐性硬骨鱼类上皮细胞基底膜外侧的 NKA 可形成电化学梯度来转运 Na^+和 Cl^-[17,22]。

众多研究发现，鱼类鳃的 NKA 对外界环境盐度的反应与其生态习性有关。例如：Hwang 等[23]对莫桑比克罗非鱼（*Oreochromis mossambicus*）的研究表明，当生活于自然栖息的淡水环境下时，鳃中 NKA 的活力最低，当处于高渗环境下时，NKA 活力则增加；Lin 等[19,24]对遮目鱼（*Chanos chanos*）的研究发现，在自然栖息的海水环境下，鳃中 NKA 的活力最低，当处于低渗环境下时，NKA 活力则增加；Kang 等[25]分别对自然栖息地以淡水为主的青鳉（*Oryzias latipes*）和以半咸水为主的黑点青鳉（*Oryzias dancena*）进行研究发现，当青鳉和黑点青鳉分别生活在海水和淡水条件下时，其鳃中 *NKA α* 亚基 mRNA 表达量最高，而这 2 种鱼类分别生活在淡水和半咸水条件下时，其 NKA 活力和 α 亚基蛋白丰富度是最低的。同样的现象在大马哈鱼（*Oncorhynchus keta*）[26]、大西洋鲑（*Salmo salar*）[27]、褐鳟（*Salmo trutta*）[28]、侧边底鳉[29]、条纹鲈（*Morone saxatilis*）[30]和尼罗罗非鱼（*Oreochromis niloticus*）[1]的研究中也有发现。由此可见，鱼类生活在自然栖息盐度环境下时，其鳃 NKA 活力最低，这也提示鳃 NKA 活力或许可以反映鱼类对环境的适应程度。

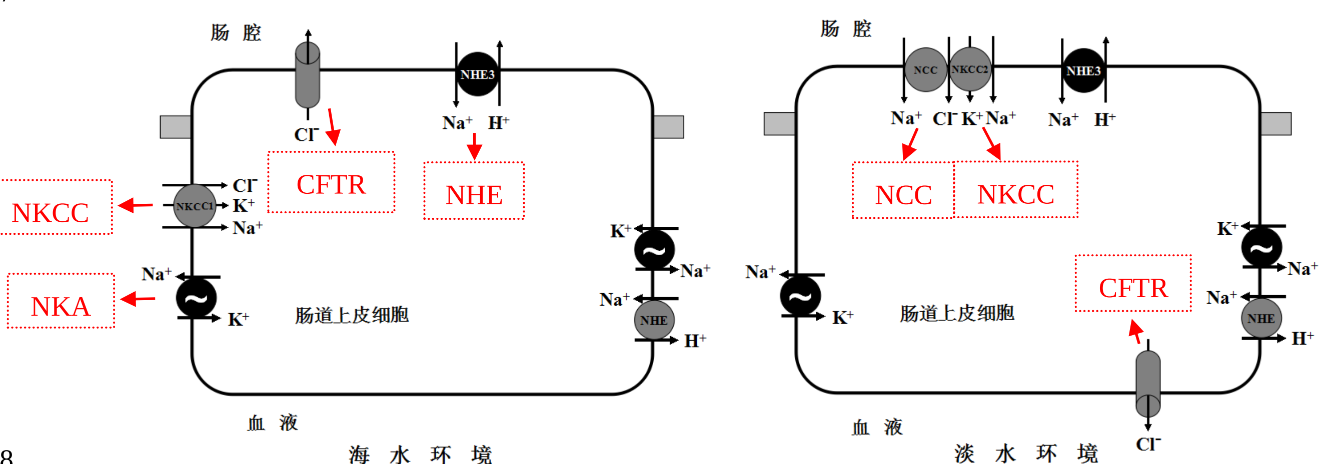
广盐性鱼类可通过调节鳃中 NKA 的活力来适应环境盐度的变化，而鱼类鳃中 NKA 活力的改变可能是其不同亚基差异表达综合表现的结果。例如：Richards 等[31]对虹鳟鳃中 NKA 中的 5 种不同的 α 亚基（α1a、α1b、α1c、α2、α3）的研究发现，虹鳟从淡水移到含有 80%海水的水体环境后，鳃中 *NKA α1c* 和 *α3* 的 mRNA 表达量没有显著变化，而 *NKA α1a* 的 mRNA 表达量降低，*NKA α1b* 的 mRNA 表达量则增加；冯平等[32]对不同盐度下青鳉肠道中 *NKA* 基因表达的研究发现，肠道 *NKA α* 的表达在氯化钠（NaCl）含量为 5、15 和 25 g/L 的盐水中不变，而肠道 *NKA β* 的表达在 15 和 25 g/L 的盐水中被显著抑制。可见，盐度变化可引起鳃、肠道中 *NKA* 不同亚基的差异表达，其中肠道 *NKA α* 和 *β* 的差异表达说明 *NKA β* 只在低渗环境下起作用，而 *NKA α* 在低渗和高渗环境下都起作用；鳃 *NKA* 的 *α1a*、*α1b* 的差异表达表明两者可能分别调控鱼类在低渗和高渗环境下的渗透压平衡，这也解释了为何广盐性鱼类可通过 NKA 调节广泛地适应不同盐度环境。

外界盐度的变化不仅影响鳃中 NKA 的活力，也会改变鱼体肠道和肾脏中 *NKA* 的表达。Seale 等[33]在对莫桑比克罗非鱼的研究中发现，海水环境下肠道 *NKA α* 的表达水平显著高于淡水环境下。Tang 等[5]在研究性成熟前的日本鳗鲡（*Anguilla japonica*）时发现，海水环境下鳃中 *NKA α* 的表达水平高于淡水环境下，而肾脏中 *NKA α* 的表达水平低于淡水环境下。可见，在鱼类渗透压平衡调节过程中，不仅鳃中 NKA 起作用，其他渗透压调节组织中的 NKA 也发挥着重要作用，甚至有些鱼类肠道中的 NKA 对盐度改变的敏感性高于鳃中的 NKA。例如：吴庆元等[34]对鲻鱼（*Mugil cephalus*）幼鱼的研究发现，在盐度为 20 的水体环境下，鲻鱼幼鱼肠道中 NKA 活力明显高于鳃中；Grosell[35]也认为，在海洋鱼类中，肠道中的 NKA 活力一般都比较高，有时甚至高于鳃中 NKA 的活力。外界盐度的改变引起多个组织中 NKA 活力的改变，表明 NKA 对稳定鱼类体液渗透压有重要作用。另外，张春晓等[36]对鲈鱼（*Lateolabrax japonicus*）的研究发现，低镁饲料（镁水平为 0.413 g/kg）组的鲈鱼在长期适应淡水环境后，其鳃丝中 NKA 活力在急性盐度胁迫 1 h 时显著低于高镁饲料（镁水平为 1.042~1.991 g/kg）组，可见长期摄食低镁饲料会降低鲈鱼鳃丝中 NKA 对环境盐度刺激的敏感度，从而证实食物中离子浓度对鱼体内稳态的维持具有重要意义。因此，在对鱼类体液渗透压调节方面的研究中，除考虑水体环境因素外，食物中的矿物元素含量也不应忽视。

NCC：Na^+/Cl^-协同转运蛋白 Na^+/Cl^- cotransporter；NHE：Na^+/H^+交换蛋白 Na^+/H^+ exchanger；CFTR：囊性纤维化跨膜调控子 cystic fibrosis transmembrane conductance regulator；NKA：Na^+/K^+-ATP 酶 Na^+/K^+-ATPase；NKCC1：Na^+-K^+-$2Cl^-$协同转运蛋白 1 Na^+-K^+-$2Cl^-$ cotransporter 1。图 2 同 The same as Fig。2.

图 1　海水和淡水环境下鱼鳃中泌氯细胞的形态及转运机制（基于 McCormick[37]，略有修改）

Fig.1　Morphology and transport mechanisms of gill chloride cells in seawater and fresh water （to slightly change something based on the McCormick[37]）



NKCC2：Na^+-K^+-$2Cl^-$协同转运蛋白 2 Na^+-K^+-$2Cl^-$ cotransporter 2；NHE3：Na^+/H^+交换蛋白 Na^+/H^+ exchanger 3。

图 2　鱼肠道中离子交换转运机制概念模型（基于 Grosell 等[38]，略有修改）

Fig.2　Conceptual model of transport processes involved in intestinal ions exchange in fish （to slightly change something based on the Grosell, et al[38]）

2　NKCC 和 NCC

作为溶质转运体 12A（SLC12A）蛋白家族的一员，NKCC 是一种膜蛋白，位于上皮细胞膜的顶端或基底侧，主要作用是离子的吸收和分泌，即负责同时将 1 分子的 Na^+、1 分子的 K^+和 2 分子的 Cl^-通过它们的电化学梯度转移至上皮细胞内[39-42]（图 1 和图 2）。在鱼类中已确定 NKCC 有 2 个亚型，分别是位于细胞基底外侧的 NKCC1（作用是向体外分泌离子）和位于细胞顶膜的 NKCC2（作用是向体内吸收离子），因而当鱼体内的细胞处于高渗环境下时，可激活 NKCC1 通过细胞向外界分泌离子来调节细胞内外渗透压的平衡（图 1）[16,43]。有学者已从欧洲鳗鲡（*Anguilla anguilla*）[43]和莫桑比克罗非鱼[44]体内克隆出 *NKCC1* 基因的 2 个亚型，即 *NKCC1a* 和 *NKCC1b* 基因。在硬骨鱼类中，*NKCC1a* 基因在大部分的组织中都有表达，

而 *NKCC1b* 基因则主要在大脑中表达[45]。另外，*NKCC*2 基因主要在肠道和肾脏上皮细胞顶膜处表达[33,43-44,46]，如 Tresguerres 等[47]研究发现，在海洋硬骨鱼类的肠道中，NaCl 从肠腔内吸收进入肠壁细胞主要是通过顶膜的 NKCC2 途径。

多数研究发现，改变水体盐度可以影响鱼体组织中 *NKCC* 基因的表达。例如，侧边底鳉在从淡水转移至海水后，鳃上皮细胞中 *NKCC*1 的 mRNA 表达量增加[29,48]。当萨罗罗非鱼（*Sarotherodon melanothern*）生活于 136 盐度环境下时，其鳃中 *NKCC1a* 的 mRNA 表达量极显著高于 0 盐度环境下[49]。另外，Hiroi 等[50]在对 3 种鲑科鱼类[湖红点鲑（*Salvelinus namaycush*）、美洲红点鲑（*Salvelinus fontinalis*）和大西洋鲑]的研究中发现，随着外界环境盐度的升高，3 种鱼鳃中 *NKCC* 基因的表达呈现上调的趋势，这与 NKA 活力的变化趋势相同。Lorin-Nebel 等[51]采用分子生物学方法对欧洲鲈鱼（*Dicentrarchus labrax*）不同组织中 *NKCC*1 基因分析后发现，淡水环境下，鲈鱼鳃中 *NKCC1* 的 mRNA 表达量显著低于海水环境下，而后肾和后肠中 *NKCC*（*NKCC1* 和 *NKCC2*）的 mRNA 表达量受水体盐度的影响不大。同时，范武江等[49]研究也发现，136 盐度环境下萨罗罗非鱼鳃中 *NKCC1a* 的 mRNA 表达量极显著高于肠道和肾脏中，说明鳃是鱼类在海水环境中向外分泌离子的主要部位。Cutler 等[43]对欧洲鳗的研究发现，当非迁徙的黄鳗（性成熟前的欧洲鳗鲡腹部为黄色）移至海水环境下 2 h 时，其鳃中 *NKCC1a* 的 mRNA 表达量上调了 4.3 倍，而且 3 周后达到近 6 倍高，而肾脏和中肠中 *NKCC1a* 的 mRNA 表达量则均有所降低；对于性成熟的银鳗（性成熟后的欧洲鳗鲡腹部为银色），移至海水环境下其鳃中 *NKCC1a* 的 mRNA 表达量并没有显著差异，而肾脏中 *NKCC1a* 的 mRNA 表达量在下调，且显著低于海水环境下黄鳗肾脏中 *NKCC1a* 的 mRNA 表达量；此外，中肠中 *NKCC1a* 的 mRNA 表达量和移至海水环境后的黄鳗相比无显著差异。可见，当欧洲鳗处于高渗环境下时，鳃中 NKCC1a 向外分泌过多的盐，进而调节体液渗透压平衡，而肠道和肾小管通过 NKCC1a 分泌盐的能力相对较低，而且不同的生态习性也会影响欧洲鳗组织中 *NKCC1a* 的 mRNA 表达。除了水体盐度外，一些激素也会影响组织中 *NKCC* 基因的表达。Tipsmark 等[28]采用离体试验对棕鳟（*Salmo trutta*）和大西洋鲑研究发现，皮质醇可以直接刺激鳃中 *NKCC*1 的 mRNA 表达。Seale 等[33]对莫桑比克罗非鱼的研究发现，由脑垂体分泌的催乳素可以调控肠道中 *NKCC*2 的 mRNA 表达，从而适应外界环境盐度的变化。

一些淡水鱼类的渗透压组织和卵黄囊膜顶膜中存在另一种 SLC12A 蛋白家族成员，即 Na^+/Cl^- 协同转运蛋白（NCC）（图 1 和图 2），其可以同时促进 Na^+ 和 Cl^- 的吸收，是一种电中性的离子转运蛋白，在海水适应过程中，NCC 活力较低[44,52-54]。邵占涛[52]在鲈鱼的研究中发现，鱼体进入淡水环境后，鲈鱼鳃、肠道、肾脏组织中 *NCC* 的 mRNA 表达量显著高于海水环境下，且在第 3 天达到最大值。Hiroi 等[44]对莫桑比克罗非鱼的研究发现，鱼体进入淡水环境后，鳃中 *NCC* 的 mRNA 表达量显著高于海水环境下。此外，Inokuchi 等[55]对莫桑比克罗非鱼的研究发现，当莫桑比克罗非鱼生活于“正常 Na^+/低 Cl^-”环境中时，其鳃中 *NCC* 的 mRNA 表达量相对于对照组（生活于“正常 Na^+/正常 Cl^-”环境中）显著增加，可见 NCC 的主要功能是促进 Cl^- 的吸收。有研究指出，位于基底膜外侧的 *NKCC1a* 主要在海水环境下表达，起向体外分泌离子的作用且存在于Ⅳ型富含线粒体的细胞中；而位于顶膜的 *NCC* 主要在淡水环境下表达，起吸收离子作用且存在于Ⅱ型富含线粒体的细胞中[44]。可见，当鱼类生活于海水环境中时，其较多的是调用细胞基底膜外侧的 NKCC1 向体外分泌离子，而当鱼类生活在淡水环境中时，较多的是调用细胞顶膜处的 NKCC2 和 NCC 向体内吸收离子。在鱼类中，关于 NKCC 和 NCC 在渗透压调节方面已有大量文献报道，但研究较多的是外界盐度的变化对其活力及 mRNA 表达的影响，而食物中矿物元素对其活力的影响还需进一步研究。

3 NHE

NHE 是一种双向离子交换载体蛋白，位于细胞的顶膜或基底膜外侧，其可以将 Na^+ 转运至细胞中并交换转运出 H^+（或 NH_4^+），并且调控 Na^+ 和 H^+ 以 1:1 的比例进行电中性交换[56-58]（图 1 和图 2）。从早期 Krogh[59] 提出 Na^+ 的吸收和酸的分泌存在偶联开始，Na^+ 和 H^+ 的交换模式就已被公认为 Na^+ 吸收的一种潜在机制。Yan 等[60]对斑马鱼红细胞、鳃、肾脏以及大脑中的 8 种 *NHE* 亚型（*NHE*1、2、3*a*、3*b*、5、6、7、8）进行克隆分析发现，在鳃组织中几种亚型表达量较高的是 *NHE*2 和 *NHE3b*，表达量较低的是 *NHE*5 和 *NHE*6；而肾脏中主要存在的亚型是 *NHE*3*a* 和 *NHE*3*b*；另外，*NHE*8 在任何组织中都存在表达。Esaki 等[61]通过选用不同抑制剂来抑制斑马鱼幼鱼阶段 NKA、NKCC、NHE 和 H^+-ATP 酶（H^+-ATPase）的活力，结果发现 NHE 和 H^+-ATPase 在线粒体丰富细胞中对 Na^+ 吸收起着重要的作用；此外，在富含 H^+-ATPase 的线粒体丰富细胞中存在一种高表达的转录因子 *foxi3a*，该转录因子的缺失会抑制线粒体丰富细胞的分化，且降低 Na^+

的吸收。

有研究表明，鱼类组织中的 *NHE* mRNA 的表达也容易受到外界盐度的影响。例如，Choe 等[62]对板鳃亚纲的黄貂鱼（*Dasyatis sabina*）的研究发现，当该鱼生活于低盐度的水体中时，鳃线粒体丰富细胞顶膜处 *NHE*3 的表达会增加，从而促进对水体 Na^+的吸收。在莫桑比克罗非鱼的研究中也发现，淡水环境下罗非鱼鳃中 *NHE*3 的 mRNA 表达量高于海水环境下[55,63]。而 Grosell 等[错误!未定义书签。]对虹鳟的研究发现，当虹鳟从淡水环境移至含有 65%海水的水体环境后，其肠道中 *NHE*3 的 mRNA 表达量在上调，进而促进肠道分泌 H^+以中和肠腔上皮细胞分泌的 HCO_3^-来维持肠腔内酸碱平衡，说明 NHE3 参与机体渗透压与酸碱平衡的调节。又如，当水体中二氧化碳（CO_2）浓度过高时，鱼体血浆中碳酸盐的浓度会增加[64]，而较高的血浆碳酸盐浓度可刺激血浆中皮质醇浓度的升高，皮质醇浓度升高会显著提高肾脏中 *NHE* 的 mRNA 表达和蛋白丰富度[65]。另外，Hirata 等[66]对极度耐酸的雅罗鱼（*Tribolodon hakonensis*）的研究发现，在雅罗鱼移至酸性环境时，其鳃中 *NHE*3 mRNA 的表达量显著增加，极大的促进了 H^+的排出和 Na^+吸收。上述研究结果进一步表明，NHE 不仅在鱼体渗透压的平衡调节过程中起作用，也参与了体液酸碱平衡的调节，而激素、水体盐度和 pH 皆可影响鱼类 NHE 活力，表明 NHE 的调控可能存在多种途径。此外，也有研究者发现相同处理条件下，*NHE* 不同亚型 mRNA 的表达存在差异。如 Scott 等[67]将侧边底鳉鱼从含有 10%海水的水体环境移至淡水环境 12 h 后发现，鳃中 *NHE*2 基因的表达量显著高于 *NHE*3 基因的表达量；Ivanis 等[65]在对虹鳟的研究中发现，虹鳟肾脏中 *NHE*3 的 mRNA 表达量比 *NHE*2 高，说明 NHE 不同亚型的功能可能存在差异。

由此可见，NHE 参与 Na^+的吸收和 H^+的分泌，进而维持体液渗透压和酸碱平衡。但有研究指出鱼类在海水环境下 NHE 的主要功能是维持体液的酸碱平衡[63,68-69]；而在淡水环境中，NHE 的主要功能是维持体液的渗透压平衡[58]。因而，在通过 NHE 途径研究食物中矿物元素调控鱼体液渗透压平衡时，应考虑鱼体所处环境的盐度。此外，与 *NKA* 相同，*NHE* 也存在多种亚型，而这些亚型受外界条件的影响所产生的表达各不相同，因此在渗透压平衡调节的研究中，还应注意 *NHE* 不同亚基表达差异的影响。

4 CFTR

CFTR 是一种调节 Cl^-转运的阴离子通道蛋白（图 1 和图 2），主要位于硬骨鱼类鳃组织中富含线粒体的泌氯细胞以及鳃盖上皮细胞中，CFTR 是通过环腺苷酸（cAMP）和蛋白激酶 A（PKA）来激活的[70]。Singer 等[71]对不同盐度下的侧边底鳉体组织中 *CFTR* 基因克隆分析发现，当淡水环境中的鳉鱼突然移至海水环境后，其鳃、鳃盖上皮细胞以及肠道中 *CFTR* 基因的表达量显著升高。Scott 等[29]研究发现，当鳉鱼从海水环境中移至淡水环境中时，24 h 内 *CFTR* 基因的表达量显著降低甚至消失，同样的现象在罗非鱼[72]中也有发现。鱼类鳃组织的 CFTR 基因在海水中高表达，在淡水中低表达，说明 CFTR 是广盐性硬骨鱼类鳃线粒体丰富细胞分泌 Cl^-，维持体内 Cl^-平衡的重要调控途径。另外，Singer 等[73]对大西洋鲑的研究发现，*CFTR* 也存在 2 种亚型，当该鱼从淡水环境中移至海水环境中 2 周内，其鳃中 *CFTR* Ⅰ的表达量显著上调，而 *CFTR* Ⅱ的表达量只是在最开始的 24 h 内出现短暂的上调，说明 CFTR Ⅱ的主要功能是应对环境盐度的突变。因此，在研究 CFTR 调控 Cl^-代谢而参与体液渗透压平衡时，不仅要考虑 CFTR 活力，还应考虑采样时间和 *CFTR* 不同亚型的差异表达所带来的影响。

5 小　结

根据以上研究报道，与 Na^+和 Cl^-转运相关的载体蛋白 NKA、NKCC、NCC、NHE 和 CFTR 均参与广盐性硬骨鱼类的机体渗透压调节。其中位于膜基底侧的 NKA 主要功能是水解 ATP 提供能量，并将细胞中的 Na^+运输到细胞外，形成 Na^+浓度梯度差，进而调节膜上 NHE、NKCC、NCC 调节转运细胞内外环境中的 Na^+和 Cl^-。此外，位于鳃的泌氯细胞和鳃盖上皮细胞中的 CFTR 主要调控 Cl^-的代谢，当生活在高渗环境下，CFTR 可以调节 Cl^-向机体外运输，来维持机体内的渗透压稳态。目前关于鱼类体液渗透压平衡调节的研究，较多的关注水体盐度的改变对 Na 和 Cl 转运载体的影响，而对于食物中矿物质因素对渗透压影响的研究较少。因此，通过对 Na 和 Cl 转运载体的功能及调控机制研究的总结，将为探讨饲料矿物质调节鱼类渗透压平衡机制提供理论依据。

参考文献：

[1] 庄青青.盐度胁迫下尼罗罗非鱼鳃离子细胞和 Na^+-K^+-ATPase a1 的渗透调节[D].硕士学位论文.上海:上

海海洋大学,2013.

[2] KARNAKY K J,ERNST S A,PHILPOTT C W.Teleost chloride cell. Ⅰ.Response of pupfish *Cyprinodon variegatus* gill Na,K-ATPase and chloride cell fine structure to various high salinity environments[J].The Journal of Cell Biology,1976,70(1):144–156.

[3] MACHADO M R.Uso de brânquias de peixes como indicadores de qualidade das águas[J].Unopar Científica Ciências Biológicas e da Saúde,1999,1(1):63–76.

[4] 李加儿,刘匆,段彪.提高鱼类渗透压调节能力研究进展[J].水产养殖,2002(3):30–32.

[5] TANG C H,LAI D Y,LEE T H.Effects of salinity acclimation on Na^+/K^+–ATPase responses and *FXYD*11 expression in the gills and kidneys of the Japanese eel (*Anguilla japonica*)[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part A:Molecular & Integrative Physiology,2012,163(3/4):302–310.

[6] BUCKING C,WOOD C M.Water dynamics in the digestive tract of the freshwater rainbow trout during the processing of a single meal[J].Journal of Experimental Biology,2006,209(10):1883–1893.

[7] BUCKING C,WOOD C M.Gastrointestinal processing of Na^+,Cl^-,and K^+ during digestion:implications for homeostatic balance in freshwater rainbow trout [J].American Journal of Physiology:Regulatory,Integrative and Comparative Physiology,2006,291(6):1764–1772.

[8] STURROCK A M,HUNTER E,MILTON J A,et al.Analysis methods and reference concentrations of 12 minor and trace elements in fish blood plasma[J].Journal of Trace Elements in Medicine and Biology,2013,27(4):273–285.

[9] NORDLIE F G.Plasma osmotic,Na^+ and Cl^-_regulation under euryhaline conditions in *Cyprinodon variegatus* lacépède[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part A:Physiology,1987,86(1):57–61.

[10] EVANS D H.Teleost fish osmoregulation:what have we learned since August Krogh,Homer Smith,and Ancel Keys[J].American Journal of Physiology:Regulatory,Integrative and Comparative Physiology,2008,295(2):R704-R713.

[11] BUCKING C,WOOD C M,GROSELL M.Uptake,handling and excretion of Na^+ and Cl^- from the diet *in vivo* in freshwater- and seawater-acclimated killifish,*Fundulus heteroclitus*,an agastric teleost[J].Indian Journal of Experimental Biology,2013,216(20):3925–3936.

[12] SCOTT G R,SCHULTE P M,WOOD C M.Plasticity of osmoregulatory function in the killifish intestine:drinking rates,salt and water transport,and gene expression after freshwater transfer[J].Journal of Experimental Biology,2006,209(20):4040–4050.

[13] WOOD C M,BUCKING C,GROSELL M.Acid-base responses to feeding and intestinal Cl^- uptake in freshwater-and seawater-acclimated killifish,*Fundulus heteroclitus*,an agastric euryhaline teleost[J].Blades on Ice,2010,213(Pt 15):2681–2692.

[14] EPSTEIN F H,MANITIUS A,WEINSTEIN E,et al.Sodium- and potassium-activated adenosine triphosphatase in kidneys of *Fundulus heteroclitus* adapted to fresh and salt water[J].Yale Journal of Biology & Medicine,1969,41(5):388–393.

[15] HWANG P P,LEE T H.New insights into fish ion regulation and mitochondrion-rich cells[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part A:Molecular & Integrative Physiology,2007,148(3):479–497.

[16] CUTLER C P,CRAMB G.Molecular physiology of osmoregulation in eels and other teleosts:the role of

transporter isoforms and gene duplication[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part A:Molecular & Integrative Physiology,2001,130(3):551–564.

[17] MARSHALL W S.Na^+,$Cl^−$,Ca^{2+} and Zn^{2+} transport by fish gills:retrospective review and prospective synthesis[J].Journal of Experimental Zoology,2002,293(3):264–283.

[18] EVANS D H,PIERMARINI P M,CHOE K P.The multifunctional fish gill:dominant site of gas exchange,osmoregulation,acid-base regulation,and excretion of nitrogenous waste[J].Physiological Reviews,2005,85(1):97–177.

[19] LIN Y M,CHEN C N,LEE T H.The expression of gill Na,K-ATPase in milkfish,*Chanos chanos*,acclimated to seawater,brackish water and fresh water[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part A:Molecular & Integrative Physiology,2003,135(3):489–497.

[20] TANG C H,LEE T H.The effect of environmental salinity on the protein expression of Na^+/K^+-ATPase,Na^+/K^+/2Cl^- cotransporter,cystic fibrosis transmembrane conductance regulator,anion exchanger 1,and chloride channel 3 in gills of a euryhaline teleost,*Tetraodon nigroviridis*[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part A:Molecular & Integrative Physiology,2007,147(2):521–528.

[21] LIN C H,LEE T H.Sodium or potassium ions activate different kinetics of gill Na,K-ATPase in three seawater- and freshwater-acclimated euryhaline teleosts[J].Journal of Experimental Zoology Part A:Comparative Experimental Biology,2005,203(1):57–65.

[22] HIROSE S,KANEKO T,NAITO N,et al.Molecular biology of major components of chloride cells[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part B:Biochemistry and Molecular Biology,2003,136(4):593–620.

[23] HWANG P P,SUN C M,WU S M.Changes of plasma osmolality,chloride concentration and gill Na^+-K^+-ATPase activity in tilapia *Oreochromis mossambicus* during seawater acclimation[J].Marine Biology,1989,100(3):295–299.

[24] LIN Y M,CHEN C N,YOSHINAGA T,et al.Short-term effects of hyposmotic shock on Na^+/K^+-ATPase expression in gills of the euryhaline milkfish,*Chanos chanos*[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part A:Molecular & Integrative Physiology,2006,143(3):406–415.

[25] KANG C K,TSAI S C,LEE T H,et al.Differential expression of branchial Na^+/K^+-ATPase of two medaka species,*Oryzias latipes* and *Oryzias dancena*,with different salinity tolerances acclimated to fresh water,brackish water and seawater[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part A:Molecular & Integrative Physiology,2008,151(4):566–575.

[26] UCHIDA K,KANEKO T,TAGAWA M,et al.Localization of cortisol receptor in branchial chloride cells in chum salmon fry[J].General and Comparative Endocrinology,1998,109(2):175–185.

[27] D'COTTA H,VALOTAIRE C,GAC F L,et al.Synthesis of gill Na^+-K^+-ATPase in Atlantic salmon smolts:differences in α-mRNA and α-protein levels[J].American Journal of Physiology：Regulatory, Integrative and Comparative Physiology,2000,278(1):R101–R110.

[28] TIPSMARK C K,MADSEN S S,SEIDELIN M,et al.Dynamics of Na^+,K^+,2$Cl^−$ cotransporter and Na^+,K^+-ATPase expression in the branchial epithelium of brown trout (*Salmo trutta*) and atlantic salmon (*Salmo salar*)[J].Journal of Experimental Zoology,2002,293(2):106–118.

[29] SCOTT G R,RICHARDS J G,FORBUSH B,et al.Changes in gene expression in gills of the euryhaline killifish (*Fundulus heteroclitus*) after abrupt salinity transfer[J].American Journal of Physiology:Cell

Physiology,2004,287(2):C300–C309.

[30] TIPSMARK C K,MADSEN S S,BORSKI R J.Effect of salinity on expression of branchial ion transporters in striped bass (*Morone saxatilis*)[J].Journal of Experimental Zoology Part A:Comparative Experimental Biology,2004,301(12):979–991.

[31] RICHARDS J G,SEMPLE J W,BYSTRIANSKY J S,et al.Na^+/K^+–ATPase α-isoform switching in gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during salinity transfer[J].Journal of Experimental Biology,2003,206(24):4475–4486.

[32] 冯平,王峰,范光丽.盐度对青鳉鱼肠内 Na^+-K^+-ATPase 基因表达的影响[J].西北农业学报,2006,15(6):24–27.

[33] SEALE A P,STAGG J J,YAMAGUCHI Y,et al.Effects of salinity and prolactin on gene transcript levels of ion transporters,ion pumps and prolactin receptors in *Mozambique tilapia* intestine[J].General and Comparative Endocrinology,2014,206:146–154.

[34] 吴庆元,蒋玫,李磊,等.低盐度胁迫对鲻鱼(*Mugil cephalus*)幼鱼鳃丝、肌肉、肠 Na^+-K^+-ATP 酶活性和 MDA 含量的影响[J].生态与农村环境学报,2014,30(4):481–487.

[35] GROSELL M.Intestinal anion exchange in marine fish osmoregulation[J].Journal of Experimental Biology,2006,209(15):2813–2827.

[36] 张春晓,周磊,叶继丹,等.急性盐度胁迫对摄食不同镁水平饲料鲈血清渗透压和离子水平以及鳃丝 ATP 酶活力的影响[J].水产学报,2012,36(9):1425–1434.

[37] MCCORMICK S D.Endocrine control of osmoregulation in teleost fish[J].American Zoologist,2001,41(4):781–794.

[38] GROSELL M,GILMOUR K M,PERRY S F.Intestinal carbonic anhydrase,bicarbonate,and proton carriers play a role in the acclimation of rainbow trout to seawater[J].American Journal of Physiology:Regulatory,Integrative and Comparative Physiology,2007,293(5):R2099–R2111.

[39] RUSSELL J M.Sodium-potassium-chloride cotransport[J].Physiological Reviews,2000,80(1):211–276.

[40] HEBERT S C,MOUNT D B,GAMBA G.Molecular physiology of cation-coupled Cl^- cotransport:the SLC12 family[J].Pflügers Archiv,2004,447(5):580–593.

[41] GAMBA G.Molecular physiology and pathophysiology of electroneutral cation-chloride cotransporters[J].Physiological Reviews,2005,85(2):423–493.

[42] 廖雅丽,张晨捷,高权新,等.鱼类离子细胞及离子通道的研究进展[J].海洋渔业,2015,37(1):77–86.

[43] CUTLER C P,CRAMB G.Two isoforms of the $Na^+/K^+/2Cl^-$ cotransporter are expressed in the European eel (*Anguilla anguilla*)[J].Biochimica et Biophysica Acta:Biomembranes,2002,1566(1/2):92–103.

[44] HIROI J,YASUMASU S,MCCORMICK S D,et al.Evidence for an apical Na-Cl cotransporter involved in ion uptake in a teleost fish[J].Journal of Experimental Biology,2008,211(16):2584–2599.

[45] KANG C K,TSAI H J,LIU C C,et al.Salinity-dependent expression of a $Na^+,K^+,2Cl^-$ cotransporter in gills of the brackish medaka *Oryzias dancena*:a molecular correlate for hyposmoregulatory endurance[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part A:Molecular & Integrative Physiology,2010,157(1):7–18.

[46] CUTLER C P,CRAMB G.Differential expression of absorptive cation-chloride-cotransporters in the intestinal and renal tissues of the European eel (*Anguilla anguilla*)[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part

B:Biochemistry & Molecular Biology,2008,149(1):63–73.

[47] TRESGUERRES M,LEVIN L R,BUCK J,et al.Modulation of NaCl absorption by HCO_3^- in the marine teleost intestine is mediated by soluble adenylyl cyclase[J].American Journal of Physiology:Regulatory,Integrative and Comparative Physiology,2010,299(1):R62–R71.

[48] SCOTT G R,KEIR K R,SCHULTE P M.Effects of spironolactone and RU486 on gene expression and cell proliferation after freshwater transfer in the euryhaline killifish[J].Journal of Comparative Physiology B,2005,175(7):499–510.

[49] 范武江,李思发.萨罗罗非鱼 *NKCC1α* 基因 cDNA 克隆及 mRNA 组织表达差异[J].动物学研究,2010,31(6):601–609.

[50] HIROI J,MCCORMICK S D.Variation in salinity tolerance,gill Na^+/K^+-ATPase,$Na^+/K^+/2Cl^-$ cotransporter and mitochondria-rich cell distribution in three salmonids *Salvelinus namaycush*,*Salvelinus fontinalis* and *Salmo salar*[J].Journal of Experimental Biology,2007,210(6):1015–1024.

[51] LORIN-NEBEL C,BOULO V,BODINIER C,et al.The $Na^+/K^+/2Cl^-$ cotransporter in the sea bass *Dicentrarchus labrax* during ontogeny:involvement in osmoregulation[J].Journal of Experimental Biology,2006,209(24):4908–4922.

[52] 邵占涛.鲈鱼头肾 cDNA 文库的构建与免疫相关基因的筛选及中肾 *NCC* 基因的研究[D].博士学位论文.济南:山东师范大学,2009.

[53] BREVES J P,SERIZIER S B,GOFFIN V,et al.Prolactin regulates transcription of the ion uptake Na^+/Cl^- cotransporter (*NCC*) gene in zebrafish gill[J].Molecular and Cellular Endocrinology,2013,369(1/2):98–106.

[54] HSU H H,LIN L Y,TSENG Y C,et al.A new model for fish ion regulation:identification of ionocytes in freshwater- and seawater-acclimated medaka (*Oryzias latipes*)[J].Cell and Tissue Research,2014,357(1):225–243.

[55] INOKUCHI M,HIROI J,WATANABE S,et al.Morphological and functional classification of ion-absorbing mitochondria-rich cells in the gills of *Mozambique tilapia*[J].Journal of Experimental Biology,2009,212(7):1003–1010.

[56] HAYASHI H,SZÁSZI K,GRINSTEIN S.Multiple modes of regulation of Na^+/H^+ exchangers[J].Annals of the New York Academy of Sciences,2002,976:248–258.

[57] ORLOWSKI J,GRINSTEIN S.Na^+/H^+ exchangers of mammalian cells[J].The Journal of Biological Chemistry,1997,272(36):22373–22376.

[58] PARKS S K,TRESGUERRES M,GOSS G G.Theoretical considerations underlying Na^+ uptake mechanisms in freshwater fishes[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part C:Toxicology & Pharmacology,2008,148(4):411–418.

[59] KROGH A.The active absorption of ions in some freshwater animals[J].Journal of Comparative Physiology,1938,25(3):335–350.

[60] YAN J J,CHOU M Y,KANEKO T,et al.Gene expression of Na^+/H^+ exchanger in zebrafish H^+ -ATPase-rich cells during acclimation to low-Na^+ and acidic environments[J].The American Journal of Physiology:Cell Physiology,2007,293(6):C1814–C1823.

[61] ESAKI M,HOSHIJIMA K,KOBAYASHI S,et al.Visualization in zebrafish larvae of Na^+ uptake in

mitochondria-rich cells whose differentiation is dependent on *foxi3a*[J].American Journal of Physiology：Regulatory,Integrative and Comparative Physiology,2007,292(1):R470–R480.

[62] CHOE K P,KATO A,HIROSE S,et al.NHE3 in an ancestral vertebrate:primary sequence,distribution,localization,and function in gills[J].American Journal of Physiology:Regulatory,Integrative and Comparative Physiology,2005,289(5):R1520–R1534.

[63] WATANABE S,NIIDA M,MARUYAMA T,et al.Na^+/H^+ exchanger isoform 3 expressed in apical membrane of gill mitochondrion-rich cells in Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus*[J].Fisheries Science,2008,74(4):813–821.

[64] RIMOLDI S,TEROVA G,BRAMBILLA F,et al.Molecular characterization and expression analysis of Na^+/H^+ exchanger (*NHE*)-1 and *c-Fos* genes in sea bass (*Dicentrarchus labrax*,L) exposed to acute and chronic hypercapnia[J].Journal of Experimental Marine Biology and Ecology,2009,375(1/2):32–40.

[65] IVANIS G,BRAUN M,PERRY S F.Renal expression and localization of SLC9A3 sodium/hydrogen exchanger and its possible role in acid-base regulation in freshwater rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J].American Journal of Physiology：Regulatory,Integrative and Comparative Physiology,2008,295(3):R971–R978.

[66] HIRATA T,KANEKO T,ONO T,et al.Mechanism of acid adaptation of a fish living in a pH 3.5 lake [J].American Journal of Physiology:Regulatory,Integrative and Comparative Physiology,2003,53(5):R1199–R1212.

[67] SCOTT G R,CLAIBORNE J B,EDWARDS S L,et al.Gene expression after freshwater transfer in gills and opercular epithelia of killifish:insight into divergent mechanisms of ion transport[J].Journal of Experimental Biology,2005,208(14):2719–2729.

[68] WALL B,MORRISON-SHETLAR A I,CLAIBORNE J B.Effects of environment salinity and hypercapnia on NHE2-like and NHE3-like protein expression in the gill of the mumichog (*Fundulus heteroclitus*)[J].Bulletin Mount Desert Island Biological Laboratory,2001,40:58–59.

[69] EDWARDS S L,CLAIBORNE J B,MORRISON-SHETLAR A I,et al.Expression of Na^+/H^+ exchanger mRNA in the gills of Atlantic hagfish (*Myxine glutinosa*) in response to metabolic acidosis[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part A:Molecular & Integrative Physiology,2001,130(1):81–91.

[70] MARSHALL W S,WATTERS K D,HOVDESTAD L R,et al.CFTR Cl^- channel functional regulation by phosphorylation of focal adhesion kinase at tyrosine 407 in osmosensitive ion transporting mitochondria rich cells of euryhaline killifish[J].Journal of Experimental Biology,2009,212(15):2365–2377.

[71] SINGER T D,TUCKER S J,MARSHALL W S,et al.A divergent CFTR homologue:highly regulated salt transport in the euryhaline teleost *F.Heteroclitus*[J].American Journal of Physiology：Cell Physiology Published,1998,274(3 Pt 1):C715–C723.

[72] HIROI J,MCCORMICK S D,OHTANI-KANEKO R,et al.Functional classification of mitochondrion-rich cells in euryhaline Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*) embryos,by means of triple immunofluorescence staining for Na^+/K^+-ATPase,$Na^+/K^+/2Cl^-$ cotransporter and CFTR anion channel[J].Journal of Experimental Biology,2005,208(11):2023–2036.

[73] SINGER T D,CLEMENTS K M,SEMPLE J W,et al.Seawater tolerance and gene expression in two strains of Atlantic salmon smolts[J].Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences,2002,59(1):125–135.

Function and Regulatory Mechanism of Na^+ and Cl^- Transporters in Fish

JI Zhongli[1] ZHANG Chunxiao[2*] MAI Kangsen[3]

(1. *The Key Laboratory of Healthy Mariculture for the East China Sea*, *Ministry of Agriculture*, *Jimei University*, *Xiamen* 361021, *China*; 2. *Xiamen Key Laboratory for Feed Quality Testing and Safety Evaluation*, *Jimei University*, *Xiamen* 361021, *China*; 3. *The Key Laboratory of Mariculture*, *Education Ministry of China*, *Ocean University of China*, *Qingdao* 266003, *China*)

Abstract: Not only, Na^+ and Cl^- can participate the regulation of osmotic equilibrium and the balance of resting potential of cell membranes in fish, but the homeostasis of electrolyte in body. In the membrane of epithelial cells among gill, gastrointestinal tract and renal tubule of teleosts, there are Na^+/K^+-ATPase, Na^+-K^+-$2Cl^-$ cotransporter, Na^+/H^+ exchanger, cystic fibrosis transmembrane conductance regulator and the other transport proteins, those are the main control channels involving in the metabolism of Na^+ and Cl^-. The expression of proteins of these control channels can influence the electrolyte balance directly. This article summarized the function, factors influencing activity changes and regulatory mechanism of the main transport proteins which correlated with the transportation of Na^+ and Cl^-.

Key words: fish; Na^+; Cl^-; transporter; osmoregulation

*Corresponding author, associate professor, E-mail: cxzhang@jmu.edu.cn （责任编辑 菅景颖）